

Las biotecnologías como impulsadoras de la producción de aceite de palma sostenible*

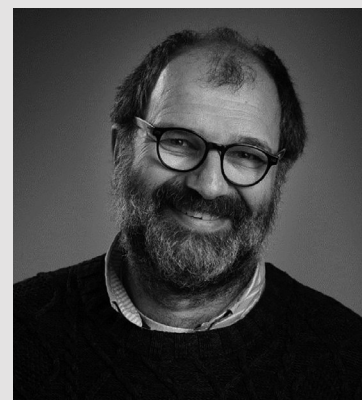
Biotechnologies are Pushing Sustainable Palm Oil Production

CITACIÓN: Rival, A. (2016). Las biotecnologías como impulsadoras de la producción de aceite de palma sostenible. *Palmas* 37(Especial Tomo I), pp. 175-182.

PALABRAS CLAVE: biotecnologías, palma de aceite, sostenibilidad.

KEYWORDS: Technology, palm oil, sustainability, oil palm.

*Artículo original recibido en inglés y traducido por Strong Tower Consulting.



ALAIN RIVAL

Coordinador de Investigación de
Palma de Aceite de CIRAD
Director regional de países insulares
del Sudeste Asiático de CIRAD
CIRAD Coordinator for Oil Palm
Research, CIRAD Regional Director
for South-East Asian Island Countries
alain.rival@cirad.fr

Resumen

Las biotecnologías y el desarrollo sostenible son temas recientes de controversias públicas. Están evolucionando de forma rápida, llegando a ser más económicas y aplicables. Existe un interés cada vez mayor en aplicar dichas tecnologías en los esfuerzos que hoy día se llevan a cabo hacia la intensificación ecológica del cultivo de palma de aceite. Los organismos vivos están soportados por el genoma (ADN) mediante la acción del transcriptoma (ARNs), el proteoma, el metaboloma y el ionoma, los cuatro pilares básicos de la genómica funcional. Estos representan la suma de todos los genes, proteínas, metabolitos y elementos dentro de un organismo. La respuesta dinámica y la interacción de estos omas bioquímicos definen cómo funciona un sistema vivo, y su estudio, la biología de sistemas, es hoy uno de los mayores desafíos de las ciencias de la vida. En el caso de la palma de aceite, al igual que en muchos cultivos principales, la genómica funcional aún se encuentra en una etapa inicial, aunque no hay razón para que

la biología de la palma de aceite no pueda beneficiarse rápidamente del acelerado progreso generado por las tecnologías automatizadas y de alto rendimiento. El éxito de los proyectos de secuenciación en varias especies de palma ha generado un interés en la exploración de la estructura y los patrones de expresión del genoma, abriendo el camino para la rápida evolución de diversos enfoques basados en la genómica. De manera simultánea, se ha solicitado a los científicos agrícolas brindar soluciones a largo plazo para la mitigación y adaptación de especies de cultivos frente al cambio climático. Un enfoque específico ha sido el de la captación de carbono en los suelos, que sin duda impulsará los esfuerzos de investigación sobre la metagenómica de organismos vivos subterráneos. Este artículo se enfocará en los desarrollos más recientes de diversas áreas de biotecnología de plantas en donde ya existen aplicaciones para mejorar la sostenibilidad o serán desplegadas en un futuro próximo.

Abstract

Biotechnologies and sustainable development are now at a crossroad and there is increasing interest in applying such technology in the current efforts for ecological intensification of oil palm cultivation. Living organisms are supported by the genome (DNA) through the action of the transcriptome (RNAs), proteome, metabolome and ionome, the four basic pillars of functional genomics. They represent the sum of all the expressed genes, proteins, metabolites, and elements within an organism. The dynamic response and interaction of these biochemical “omes” defines how a living system functions, and its study, systems biology, is now one of the biggest challenges in life sciences. In oil palm, as in many major crops, functional genomics is still at its beginning, although there are no reasons why oil palm biology should not rapidly benefit from the fast progresses generated by automated and high-throughput technologies. The success of sequencing projects on several palm species has created a widespread interest in exploring the structure and expression patterns of the genome, paving the way for the rapid evolution of various genomics-based approaches. At the same time, agricultural scientists are requested to provide long term solutions for the mitigation and adaption of crop species to climate change. A specific focus has been set on carbon capture in soils, which will certainly boost research efforts in metagenomics of underground living organisms. This article will focus on recent developments in various plant biotechnology areas in which applications for improving sustainability already exist or will be developed in the near future.

□

La sostenibilidad de la palma de aceite y las biotecnologías son objeto de debate público

El rápido desarrollo de los cultivos de palma de aceite da lugar a algunos problemas de tipo social, tales como biodiversidad, deforestación, hábitos alimentarios e inversiones éticas. La industria agroalimentaria del Norte y los agricultores de la zona tropical pueden considerar ahora que las especies de palma que se originaron en los bosques africanos son un regalo, o incluso, un milagro, pero también representan una grave amenaza ecológica según las organizaciones no gubernamentales (ONG) que abogan por el hábitat o los derechos de los pueblos indígenas (Rival y Levang, 2014).

Hay muchas opiniones acerca de la controversia pública sobre el aceite de palma, la cual es alimentada por declaraciones perentorias y, en ocasiones, exageradas. Se requiere llevar a cabo investigaciones en muchos campos y la comunidad investigadora debe pronunciar un discurso más matizado, que se base en evidencias, información científica y experiencia de campo.

La sostenibilidad de la palma de aceite aborda la investigación a través de muchas preguntas en varios campos y temas (Murphy, 2014). Sin duda, la intensificación ecológica del cultivo de palma de aceite (Fi-

gura 1), la cual involucra los pilares de la sostenibilidad como lo son el planeta y la rentabilidad (Boonen *et al.*, 2012), abarca campos de investigación importantes y multidisciplinarios como: el mejoramiento y la genética, el manejo de residuos (entrando en la economía circular), la agricultura de precisión, las mejores prácticas agrícolas, la mitigación de los gases de efecto invernadero, el control integrado de plagas y los servicios ambientales. Las investigaciones que abordan las ciencias sociales y que se fundamentan en el pilar *gente* deben encargarse de las condiciones para reducir la pobreza extrema a través del cultivo de la palma de aceite, con un enfoque en los derechos civiles y laborales, el acaparamiento de tierras, las políticas públicas, las inversiones éticas y las asociaciones público-privadas.

Las biotecnologías también son objeto de debate público, centrado principalmente en los organismos agrícolas modificados genéticamente (OMG) y en la clonación animal en Europa y EE.UU. (Sandin y Moula, 2015). Sin embargo, las biotecnologías no se restringen a los OMG, y muchas de sus aplicaciones en la agricultura ya están funcionando de manera conveniente en la sostenibilidad agrícola.

La biotecnología puede definirse como el uso de sistemas y organismos vivos para desarrollar o elaborar productos útiles. Recurre a la manipulación controlada y deliberada de sistemas biológicos para fabricar o

procesar productos útiles en forma eficiente. Durante milenios la humanidad ha utilizado la biotecnología en la agricultura, la producción de alimentos y la medicina. En efecto, la fabricación de pan, vino, cerveza, queso, tofu, medicinas tradicionales y la reproducción de plantas y animales, son biotecnologías muy antiguas.

Las biotecnologías están trabajando para la sostenibilidad de la palma de aceite

Las biotecnologías están avanzando rápidamente y se está disminuyendo la diferencia entre las plantas modelo (con genomas pequeños y un tiempo de generación menor, y con la capacidad de producir recursos genómicos con mayor rapidez y facilidad), y las plantas de cultivo (con genomas más grandes, en ocasiones poliploides, y una duración de generación mucho mayor).

La Figura 2 muestra la gran variedad de biotecnologías que se están aplicando en la actualidad (o que se aplicarán en el futuro muy cercano) y que contribuyen a la sostenibilidad del cultivo de la palma de aceite (Rival y Jalogot, 2010). Las biotecnologías tienen la capacidad de impulsar muchas áreas de investigación sobre la palma de aceite, y en este artículo se han seleccionado solamente algunos ejemplos.



Figura 1. La sostenibilidad de la palma de aceite aborda la investigación a través de muchas preguntas en varios campos y temas.

biotechnologists spectroscopy assembling antagonists
 challenges transcriptome technologies silico
 databases transcript bioinformatics metabolism
 environment data analysis ionic sequence selection
 WGS increasing scaffold loci zygotic
 GMOs consortia sequence sequencing likely QTLs
 MADS-box NGS resources resistance
 efficiency gene breeding regulation
 mutants EST yield gene palm epigenetic
 tolerance ionomics sequences biotechnology biology Solexa
 ACGT science rice genetic oil ionome Genomics environmental
 reads information RNA DNA yield complex
 bioplastics Bhd drought libraries
 Microarray consortium genome map productivity
 metabolome traits expression data intensification physiology
 genomics functions cDNA
 Sanger soils crop systems Arabidopsis Biosciences
 somaclonal changes molecular breeding fertilizers
 genotype gene discovery variation contigs Biotechnologies
 mantled sustainability metagenomics networks

En efecto, el código de barras del ADN es una herramienta molecular que utiliza cebadores estandarizados, por lo general de 600 a 800 segmentos del gen mitocondrial de citocromo *c* oxidasa I, a fin de clasificar las especies. Cada vez es más reconocido como una forma eficiente de estudiar y clasificar las especies para documentar la biodiversidad y ordenar por prioridades los trabajos de conservación. El código de barras del ADN ofrece una oportunidad para identificar, inventariar y estudiar los especímenes con el fin de (i) comprender la diversidad de las especies de un ecosistema, y (ii) evaluar la variabilidad genética dentro de las especies. En particular, los códigos de barras del ADN contienen información valiosa para las diversas partes interesadas en la conservación: los investigadores podrían identificar especies con mayor rapidez, los taxonomistas podrían determinar los

En el caso del desarrollo sostenible de la palma de aceite, se están llevando a cabo estrategias de codificación con el fin de caracterizar la biodiversidad antes y después de la siembra de cultivos, y en los límites entre los bosques, las zonas de amortiguación y las plantaciones. Asimismo, esta técnica es de gran interés para describir y documentar con precisión la biodiversidad a lo largo de la vida de los cultivos. Otro tema de investigación interesante es evaluar el impacto de la biodiversidad al interior de la plantación y de varias prácticas culturales como pasar de usar fertilizantes minerales a orgánicos, o el uso de herbicidas en algunas etapas. Dentro del marco de un estudio reciente sobre la toxicidad de rodenticidas, se identificaron varias especies de ratas que infestan los cultivos de palma de aceite mediante el método de codificación molecular (Andru *et al.*, 2013).

Ya se han emprendido estrategias de reproducción asistida por marcadores en la palma de aceite y estas cuentan con el apoyo de varias actividades de inves-

Código de barras del ADN www.barcodinglife.org

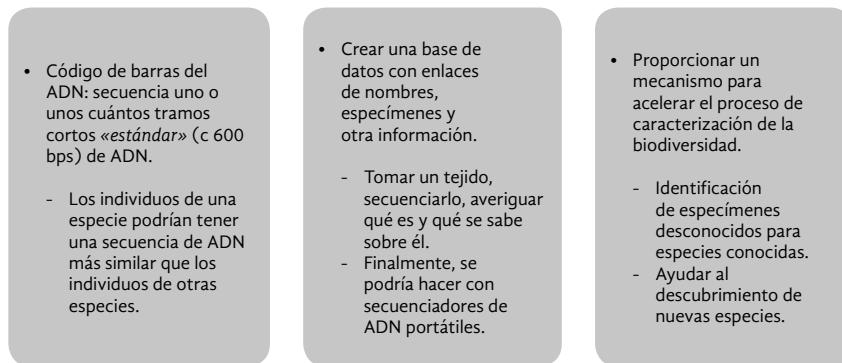


Figura 3. Elementos básicos de una estrategia de codificación del código del ADN.

tigación sobre reproducción de plantas (Rival y Jaligot, 2013, Murphy, 2014), tales como: certificar el origen y la trazabilidad del material de cultivo, optimizar el manejo de los recursos genéticos (colecciones básicas), certificar la genealogía en las pruebas genéticas y semilleros, certificar el carácter *tenera* en las semillas y mejorar la eficiencia de la selección en la *E. guineensis* a través del perfeccionamiento de la selección de progenitores. Además, se han identificado varios locus de carácter cuantitativo (QTL) de caracteres agronómicos, como la resistencia a patógenos (marchitez por *Fusarium*).

La selección genómica (SG) es una forma de selección asistida por marcadores que puede mejorar los esquemas de reproducción de plantas y animales. Se basa en una distribución densa de los marcadores por todo el genoma a fin de generar los valores genómicos estimados de reproducción (GEBV) a partir de un análisis de todos los marcadores en conjunto. En 2014 Cros *et al.* demostraron que la selección genómica tenía valor empírico en la selección recurrente recíproca de la palma de aceite, dado que podía explicar los efectos en las familias y los términos de muestreo mendeliano, a pesar de las poblaciones pequeñas y la baja densidad de marcadores.

La reproducción de la palma de aceite podría beneficiarse de la selección asistida por marcadores, pero los estudios en genética son escasos e inconclusos. Tisné *et al.* (2015) exploraron hace poco las bases genéticas de la producción de palma de aceite a través de un método innovador que se basa en la genealogía de acuerdo con el mapeo de locus de caracteres cuantitativos (QTL). Se descubrió que los patrones de

QTL dependían del origen genético y solo se compararía una región entre grupos heteróticos. Los efectos contrastantes de los QTL por número de racimo y peso reflejaron la correlación negativa cercana entre los dos caracteres. Se demostró que el método basado en la genealogía en el cual se utiliza información de los programas continuos de reproducción es eficaz, relevante y económico para mapear los QTL. Se han identificado los determinismos genéticos que contribuyen a los efectos heteróticos, los cuales ofrecen información valiosa para supervisar las estrategias de reproducción de la palma de aceite.

La revolución de la SNG está incidiendo en las biotecnologías de la palma de aceite

Desde hace poco, las tecnologías de secuenciación de nueva generación (SNG) han prometido acelerar aún más el avance a través de una producción de secuenciación mucho más grande y de menor costo. En el mercado actual hay cuatro tecnologías de SNG: 454 Life Sciences (adquirida por Roche), Solexa (adquirida por Illumina), ABI SOLID (adquirida de Agencourt Biosciences) y Helicos Biosciences. Aunque, por lo general, todas tienen sus características específicas, se pueden agrupar en dos clases, con base en las lecturas de secuenciación que generan. En efecto, Solexa, ABI SOLID y Helicos producen lecturas muy cortas en cantidades muy grandes, mientras que la plataforma 454 puede producir una cantidad más moderada de secuenciación pero con lecturas mucho más extensas.

Varias plataformas han pasado por diversas rondas de actualización de especificaciones y es probable que las mejoras continúen.

En el futuro pueden continuar los avances en las tecnologías de SNG a fin de reducir el tiempo y el costo de estos proyectos, pero probablemente esta estrategia siempre será valiosa para abordar las complejidades de la secuenciación de grandes genomas repetitivos con SNG. Las tecnologías SNG ofrecen una solución práctica e inmediata para la rápida generación de secuencias de ADN a partir de un genoma eucariótico grande y complejo, como el de la palma de aceite (Rival y Jaligot, 2010).

En los últimos años los métodos de SNG nos han permitido la secuenciación y la publicación del genoma nuclear/plastidial de la palma de aceite y de las especies de palma relacionadas. Este trabajo de investigación reciente incluye la liberación del genoma del cloroplasto de la palma datilera (Yang *et al.*, 2001) y del genoma nuclear (Al-Dous *et al.*, 2011), del genoma de la palma de aceite (Singh *et al.*, 2013 y 2014) y del genoma del cloroplasto del coco (Huang *et al.*, 2013).

Estos resultados han impulsado los estudios de genómica y epigenómica en la palma de aceite, en particular al descifrar los mecanismos moleculares subyacentes a la generación de las variantes somaclonales «alteradas» (*mantled*) (Jaligot *et al.*, 2013, Ong-Abdullah *et al.*, 2015). Sin duda alguna, la reciente publicación del ensamble del genoma de la palma de aceite africana y la primera secuencia preliminar de su pariente latinoamericana hace poco les permitieron a Beulé *et al.*, (2015) abordar el reto de comprender la composición, estructura y evolución de estos genomas de la palma a través de la anotación de sus secuencias repetitivas. Los resultados se mostraron congruentes en el historial de transposición de los retrotransposones LTR entre *E. oleifera* y *E. guineensis*, en particular la familia *Sto-4*. De igual modo, los autores identificaron y descubrieron 583 retrotransposones LTR completos en el genoma de *Elaeis guineensis*. Además, el análisis de la distribución cromosómica sugiere una inserción preferencial de elementos de *Copia* en regiones ricas en genes, mientras que los elementos de *Gypsy* aparecen distribuidos uniformemente en todo el genoma. El valioso conocimiento obtenido a par-

tir de tales estudios constituye un importante recurso para mejorar la anotación de genomas y la investigación del historial evolutivo de las palmas.

Análisis metagenómico de la biodiversidad en suelos

A través de la pirosecuenciación 454 de la región ITS1 del ADN extraído del suelo, Kerfahi *et al.* (2014) compararon las comunidades de hongos del suelo entre selvas tropicales sin talar, taladas una vez y taladas dos veces, y áreas despejadas para la palma de aceite en Sabah, Malasia. Comprender los efectos de estos cambios del uso de la tierra en los hongos del suelo, que cumplen funciones esenciales en el funcionamiento y los servicios del ecosistema de suelos, es una frontera importante para la conservación. En general, la composición de la comunidad fúngica difirió significativamente entre los bosques y las plantaciones de palma de aceite. En su totalidad, estos resultados muestran un efecto permanente respecto de la conversión de palma de aceite a la estructura de la comunidad fúngica. Los autores concluyeron que tales cambios generales en las comunidades fúngicas podrían afectar la sostenibilidad del cultivo de palma de aceite a largo plazo.

Transcriptómica y descubrimiento de genes

Con el objetivo de comprender los procesos moleculares que subyacen al desarrollo floral de la palma de aceite, Beulé *et al.* (2011) exploraron los transcriptomas de la palma de aceite al combinar la hibridación sustractiva por supresión (SSH) con los microarreglos de cDNA para identificar, a gran escala, los genes que muestran una expresión modificada en la inflorescencia alterada (*mantled*) de las palmas de aceite producidas a través de embriogénesis somáticas *in vitro*. Con este método se pudo identificar 32 genes marcadores putativos del fenotipo alterado (*mantled*).

El tejido carnoso del mesocarpio rico en lípidos del fruto de la palma de aceite no es solo la principal fuente de aceite comestible para el mundo, sino también la fuente alimentaria más rica de provitamina A. Tranbarger *et al.* (2011) examinaron la base transcripcional de estos dos importantes caracteres meta-

bólicos en el mesocarpio de la palma de aceite. Las características morfológicas, celulares, bioquímicas y hormonales definieron las fases clave del desarrollo del mesocarpio. Luego se ensambló un transcriptoma derivado de la pirosecuenciación 454 para las fases de desarrollo previas y durante la maduración, momentos en que se presentan altas tasas de biosíntesis de lípidos y carotenoides.

En un estudio reciente en el que se buscó entender el mecanismo que rige las diferencias en el contenido de aceite y en la composición de los ácidos grasos en los tejidos del fruto de la palma de aceite, Dussert *et al.* (2013) compararon el transcriptoma del tejido y la composición de los lípidos durante el desarrollo. El aporte de las vías glicolíticas citosólicas y plastidiales varió considerablemente entre los tejidos del mesocarpio y de las semillas, pero los patrones transcripcionales de los genes que participaron en la conversión de sacarosa a piruvato no se relacionaron con las variaciones en el contenido de aceite.

Conclusión

La diferencia cada vez menor entre las especies de cultivos y de plantas modelo ha permitido el avance

rápido y seguro de las biotecnologías de la palma de aceite. La mayoría de los logros recientes en la biotecnología de la palma de aceite incidirán muy pronto en ámbitos importantes de la agricultura sostenible, como en la producción de aceite por hectárea y en la resistencia a patógenos.

Las secuencias anotadas con mayor precisión del genoma de la palma de aceite están disponibles y la epigenómica se está desarrollando con rapidez, lo cual proporciona un conocimiento valioso tanto de la estructura como de la expresión del genoma, y prepara el terreno para un descubrimiento más eficiente de los genes y una mejora vegetal asistida por marcadores.

Ahora, la metagenómica está respaldando los estudios sobre el efecto de las prácticas culturales en la biología del suelo y en la de los organismos acuáticos, con lo que se obtendrá información esencial sobre el impacto del cultivo de la palma de aceite sobre la biodiversidad.

Con una mayor viabilidad de los métodos investigativos sobre el genoma, la incidencia de las biotecnologías en la explotación sostenible de la palma de aceite será mucho más palpable en los próximos años.

Referencias bibliográficas

- Al-Dous, E. K., George, B., Al-Mahmoud, M. E., Al-Jaber, M. Y., Wang, H., Salameh, Y. M., ... & Malek, J. A. (2011). De novo genome sequencing and comparative genomics of date palm (*Phoenix dactylifera*). *Nature biotechnology*, 29(6), 521-527.
- Andru, J., Cosson, J. F., Caliman, J. P. y Benoit, E. (2013). Coumatetralyl resistance of *Rattus tanezum* infesting oil palm plantations in Indonesia. *Ecotoxicology*, 22(2), 377-386.
- Beulé, T., Agbessi, M. D., Dussert, S., Jaligot, E. y Guyot, R. (2015). Genome-wide analysis of LTR-retrotransposons in oil palm. *BMC genomics*, 16(1), 795.
- Beulé, T., Camps, C., Debieesse, S., Tranchant, C., Dussert, S., Sabau, X., ... & Tregear, J. W. (2011). Transcriptome analysis reveals differentially expressed genes associated with the mantled homeotic flowering abnormality in oil palm (*Elaeis guineensis*). *Tree genetics & genomes*, 7(1), 169-182.
- Boonen, R., Aerts, S. y De Tavernier, J. (2012). Which sustainability suits you?. In *Climate change and sustainable development* (pp. 43-48). Wageningen Academic Publishers.
- Cros, D., Denis, M., Sánchez, L., Cochard, B., Flori, A., Durand-Gasselin, T., ... & Bouvet, J. M. (2014). Genomic selection prediction accuracy in a perennial crop: case study of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theoretical and Applied Genetics*, 128(3), 397-410.

- Daniel, R. (2005). The metagenomics of soil. *Nature Reviews Microbiology*, 3(6), 470-478.
- Dussert, S., Guerin, C., Andersson, M., Joët, T., Tranbarger, T. J., Pizot, M., ... & Morcillo, F. (2013). Comparative transcriptome analysis of three oil palm fruit and seed tissues that differ in oil content and fatty acid composition. *Plant physiology*, 162(3), 1337-1358.
- Huang, Y. Y., Matzke, A. J., & Matzke, M. (2013). Complete sequence and comparative analysis of the chloroplast genome of coconut palm (*Cocos nucifera*). *PLoS One*, 8(8), e74736.
- Kerfahi D, Tripathi BM, Lee J, Edwards DP, Adams JM (2014) The Impact of Selective-Logging and Forest Clearance for Oil Palm on Fungal Communities in Borneo. *PLoS ONE* 9(11): e111525.
- Morcillo, F., Cros, D., Billotte, N., Ngando-Ebongue, G. F., Domonhédó, H., Pizot, M., ... & Arondel, V. (2013). Improving palm oil quality through identification and mapping of the lipase gene causing oil deterioration. *Nature communications*, 4.
- Murphy, D. J. (2014). The future of oil palm as a major global crop: opportunities and challenges. *J Oil Palm Res*, 26(1), 1-24.
- Ong-Abdullah, M., Ordway, J. M., Jiang, N., Ooi, S. E., Kok, S. Y., Sarpan, N., ... & Martienssen, R. A. (2015). Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. *Nature*, 525(7570), 533-537.
- Rival, A., & Jaligot, E. (2010). Oil palm biotechnologies are definitely out of infancy. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 17(6), 368-374.
- Rival, A., & Levang, P. (2014). Palms of controversies: Oil palm and development challenges. *Cifor.org*.
- Sandin, P. and Moula, P. (2015). Modern Biotechnology, Agriculture, and Ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 28(5), 803-806.
- Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K. y Lane, R. (2005). Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1805-1811.
- Singh, R., Low, E. T. L., Ooi, L. C. L., Ong-Abdullah, M., Nookiah, R., Ting, N. C., ... & Sambanthamurthi, R. (2014). The oil palm VIRESCENS gene controls fruit colour and encodes a R2R3-MYB. *Nature communications*, 5.
- Singh, R., Ong-Abdullah, M., Low, E. T. L., Manaf, M. A. A., Rosli, R., Nookiah, R., ... & Sambanthamurthi, R. (2013). Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New worlds. *Nature*, 500(7462), 335-339.
- Steele, H. L. and Streit, W. R. (2005). Metagenomics: advances in ecology and biotechnology. *FEMS Microbiology Letters*, 247(2), 105-111.
- Tisné, S., Denis, M., Cros, D., Pomiès, V., Riou, V., Syahputra, I., ... and Cochard, B. (2015). Mixed model approach for IBD-based QTL mapping in a complex oil palm pedigree. *BMC genomics*, 16(1), 798.
- Tranbarger, T. J., Dussert, S., Joët, T., Argout, X., Summo, M., Champion, A., ... & Morcillo, F. (2011). Regulatory mechanisms underlying oil palm fruit mesocarp maturation, ripening, and functional specialization in lipid and carotenoid metabolism. *Plant Physiology*, 156(2), 564-584.
- Valentini A, Pompanon F, Taberlet P. (2008). DNA barcoding for ecologists. *Trends Ecol Evol* 24(2):110–117.
- Yang, M., Zhang, X., Liu, G., Yin, Y., Chen, K., Yun, Q., & Yu, J. (2010). The complete chloroplast genome sequence of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *PloS one*, 5(9), e12762.